
Lab on a Chip als practicum In het voortgezet onderwijs

EINDVERSLAG

13 september 2010

Mariëlla Verhage MSc

Inhoudsopgave

1	Inleiding	2
1.1	Spinozapremie	2
1.2	Mogelijkheden in het onderwijs	2
1.2.1	NLT	3
1.2.2	Keuzeproject Technasium	4
1.3	Practicum	4
1.3.1	Eisen	4
1.3.2	Opbouw verslag	5
2	Diëlektroforese	6
2.1	Theorie	6
2.1.1	Elektroforese	6
2.1.2	Diëlektroforese	7
2.2	Geschied als lesstof	8
2.2.1	Toepassing	8
2.2.2	Examenonderwerpen	8
2.2.3	Multidisciplinair	9
2.3	Practicum	9
3	De EL DEMO chip	11
3.1	De chip layout	11
3.1.1	Functie A	12
3.1.2	Functie B	12
3.1.3	Functie C	12
3.2	Voor- en nadelen	13
3.2.1	Fluidic Connect	13
3.2.2	Microscoop	13
3.2.3	Chip layout	13
3.2.4	Functionele werking chip	13
3.3	Technasium Holten	15
4	De nieuwe chip	16
4.1	Eisen	16
4.2	Ontwerp	16
4.3	Handleiding	17
5	Conclusie en Aanbevelingen	18
	Literatuur	20

Hoofdstuk 1

Inleiding

De aanleiding van dit onderzoek is een prettige samenloop van omstandigheden; mijn interesse in de biomedische techniek, Albert van den Berg die de spinozaprijs in ontvangst mocht nemen en de vakvernieuwende trend in het onderwijs die zich op multidisciplinaire technieken richt. Dit alles heeft geresulteerd in een onderzoek naar hoe Lab on a Chip in het huidige onderwijs gegeven kan worden. In dit hoofdstuk wordt de aanleiding en het vooronderzoek uiteengezet. Dit vooronderzoek heeft uiteindelijk geleid tot de opdracht zoals die is vervuld.

1.1 Spinozapremie

Op 9 juni 2009 werd bekend dat UT-hoogleraar Albert van den Berg de Spinozaprijs had gewonnen voor zijn doorbraken in het begrip en de manipulatie van vloeistoffen in kanalen met een micro- of nanometerschaal. Hij past deze kennis onder andere toe in nieuwe apparatuur voor de gezondheidszorg (NWO, 2009). Albert van den Berg onderzoekt op zijn vakgroep 'BIOS, the Lab on a Chip group' de mogelijkheid om kleine laboratoria op microscopische schaal te integreren. Hierin zit er dus een klein laboratorium op chip, vandaar de naam 'Lab on a Chip'.

Albert van den Berg heeft aangegeven een substantieel deel van het gewonnen geldbedrag te besteden aan onderwijs. Vanuit het vak 'Schoolpracticum 2' is naar voren gekomen dat de lerarenopleiding van ELAN een deel van invoering in het onderwijs op zich kon nemen. Na overleg met Albert van de Berg is geconcludeerd dat dit inderdaad een uitvoerbaar idee is. Dit is het eerste onderzoek in een verwachte serie van onderzoeken en opdrachten. De start van dit onderzoek was inventariseren welke methodes geschikt zouden zijn voor implementatie in het onderwijs.

1.2 Mogelijkheden in het onderwijs

Bij het vooronderzoek van dit onderzoek is bekeken op welke manier leerlingen van de middelbare school in aanraking kunnen komen met de techniek Lab on a Chip. Omdat dit een nieuw onderwerp is, is er gekeken waar de vakvernieuwing in de bètarichting plaats vindt. Hierin zijn onderstaande 4 mogelijkheden bekeken:

NLT Natuur, Leven en Technologie is een nieuw bèta keuzevak voor de bovenbouwleerlingen van HAVO en VWO (NLT, 2010). Het is een vakoverstijgend vak, betreffende de vakken natuurkunde, scheikunde, biologie, wiskunde en aardrijkskunde. Docenten kunnen modules kiezen met uiteenlopende onderwerpen over bijvoorbeeld sterrenstelsels, het brein of waterkwaliteit.

- O&O Het Technasium is een nieuwe vorm van bèta-onderwijs (Technasium, 2010). Er is hierin een nieuw vak opgenomen; Onderzoek en Ontwerpen (afgekort O&O). Hierin krijgen leerlingen per klas een opdracht van een bedrijf, gemeente of andere instelling een opdracht die op het moment belangrijk is. Per groep wordt in projectverband een oplossing bedacht en gepresenteerd aan de opdrachtgever. De opdrachten zijn veelal van technische aard.
- PW In de vijfde klas van de HAVO en in de zesde klas van het VWO moeten door leerlingen in tweetallen aan het profielwerkstuk gewerkt worden. Leerlingen mogen dit onderzoek in een profielvak doen en moeten er 80 uur aan besteden. Het onderwerp en een eventuele opdrachtgever mogen zij zelf zoeken, al hangt dit van de school af in welke mate dit gebeurt.
- MP Op het technasium is het profielwerkstuk uitgebreid met de uren die normaal aan O&O besteed worden. Het project is daarom wat groter en in dit geval is het een eis dat het bij een opdrachtgever gedaan moet worden.

Er is bekeken hoeveel leerlingen bereikt worden met een nieuwe module over Lab on a Chip voor het vak NLT, het vak O&O en de meesterproef op het Technasium, en het profielwerkstuk. De resultaten staan in onderstaande tabel. Hier is ervan uitgegaan dat bij NLT 100 scholen aan de module meedoen. Bij het technasium zullen 1 of 2 scholen een O&O opdracht over Lab on a Chip doen. Bij ongeveer 12% van de scholen zal een tweetal leerlingen het profielwerkstuk over Lab on a Chip als onderwerp kiezen. Bij de meesterproef is dit drie keer zoveel omdat de leerlingen naar alle waarschijnlijkheid al het begrip Lab on a Chip hebben meegekregen in het Technasium.

	NLT	O&O	PW	MP
Aantal scholen	225	60	500	60
Uren vak/project	40	40	80	120
aantal modules per jaar	4	4	1	1
Verwacht aantal leerlingen bereikt per jaar	1125	45	125	45

Tabel 1.1: Inventarisatie van het verwachte aantal bereikte leerlingen per jaar voor verschillende onderwijsvormen.

1.2.1 NLT

Naar aanleiding van bovenstaande cijfers is besloten het traject in te zetten voor een nieuwe module voor het vak NLT. Het vak NLT heeft de volgende hoofddoelen:

- De aantrekkelijkheid van het bètaonderwijs te verhogen
- De samenhang tussen de verschillende bètavakken te versterken

Het onderwerp Lab on a Chip is in het nieuws geweest toen de spinozapremie werd uitgereikt, en daarmee is het een aantrekkelijk onderwerp. Daarnaast is Lab on a Chip erg multidisciplinair, het aantal studies waarmee in dit veld gewerkt kan worden is hoog (onder andere natuurkunde, elektrotechniek, biomedische technologie, werktuigbouwkunde enz). Hierdoor versterkt het de samenhang tussen verschillende bètavakken.

Het doel is een module te ontwikkelen waar practica bij horen. De deelnemende school kan de benodigde materialen voor de practica huren of lenen. Inmiddels is het traject ingezet en wordt het ontwikkelingsteam samengesteld.

1.2.2 Keuzeproject Technasium

Op hetzelfde moment dat dit onderzoek begon te lopen, kwamen drie 5VWO/Technasium leerlingen van de Waerdenborgh in Holten naar Micronit (een bedrijf dat glazen Lab on a Chips fabriceert) toe voor een O&O-keuzeopdracht. Deze leerlingen zijn aan de slag gegaan met dezelfde chip als waar ik mee bezig ben geweest en ik heb ze daarom ook deels begeleid met de practicummaterialen. De uitkomsten van hun werk met het practicummateriaal staan beschreven in hoofdstuk 3.3 en in hoofdstuk 5.

1.3 Practicum

Na gesprekken te hebben gevoerd met Albert van den Berg en het bedrijf Micronit dat chips maakt, is besloten een chip te onderzoeken op geschiktheid voor een practicum, dat meegenomen kan worden in een NLT-module.

Het doel van deze opdracht is daarmee geworden:

Ontwerp en test een practicum met Lab on a Chip als onderwerp voor 5VWO leerlingen dat twee lesuren in beslag neemt. Zorg voor een pakket practicummateriaal en een handleiding voor leerlingen, docent en TOA.

De onderzoeksvraag is: *Is het mogelijk om een practicum te realiseren dat voldoet aan bovenstaand doel met de materialen die Micronit ter beschikking stelt?*

1.3.1 Eisen

Bij een practicum hoort een plan van eisen om het uiteindelijke resultaat te kunnen evalueren. Hierbij is ook gekeken naar de eisen met betrekking tot risico's over scheikundeproeven in (Kramers-Pals, Schravendijk, Bouma, Gruijter & Metselaar, 2008). De tabel hieronder laat beknopt zien welke eisen er zijn, in het deel tekst onder de tabel staan de eisen verder uitgewerkt.

Onderwerp	Eis
Leerdoel	Beeld geven over Lab on a Chip
Niveau	5VWO
Tijd	2 klokuren
Spanning	Max 20V
Vloeistoffen	Beschikbaar op school Geschikt om door leerlingen gebruikt te worden
Microscoop	Standaard lichtmicroscoop
Metingen	IP-Coach aansluiting
Practicummateriaal	Beschikbaar in koffer
Kosten	€25 per set

Tabel 1.2: Plan van Eisen voor het practicum Lab on a Chip.

Als alleenstaand practicum moet het leerlingen een beeld geven wat Lab on a Chip is. Hierin kan dan dus ook bijvoorbeeld het fabricageproces in opgenomen worden. Wanneer het practicum als aanvulling op een NLTmodule gebruikt wordt zou het veel korter kunnen. Er moet een opbouw in het practicum zitten waarin leerlingen bijvoorbeeld het eerste deel nodig hebben om door te kunnen met het tweede deel. Het tweede deel zou dan ook een duidelijk beeld moeten geven over een eventuele toepassing van Lab on a Chip in bijvoorbeeld de medische wereld.

Het practicum moet geschikt zijn voor leerlingen in de vijfde klas van het VWO en ongeveer twee klokuren in beslag nemen. Dit laatste is volgens mij een tijd die in het reguliere onderwijs

nog te besteden is voor een vakoverstijgend practicum, en toch genoeg om inzicht te geven in deze nieuwe techniek.

In een practicum mag geen bloed gebruikt worden, en de spanning mag maximaal 20V zijn. De vloeistoffen die gebruikt worden moeten veilige vloeistoffen zijn die door leerlingen gebruikt mogen worden (Kramers-Pals et al., 2008). De vloeistoffen die moeten tevens in de school aanwezig zijn om dat geen belemmering te laten zijn voor het uitvoeren van het practicum. Het bekijken van de chip moet met de standaard lichtmicroscopen kunnen die de leerlingen bij biologie-practica gebruiken. Het voordeel hiervan is dat de leerlingen al weten hoe ze deze moeten gebruiken. Voor elektrische metingen moet het mogelijk zijn IPCoach te kunnen gebruiken. Een aansluiting van de chip op het IP Coach paneel is dan noodzakelijk. De benodigdheden die niet op school te krijgen zijn (chip, houder, polystyrene bolletjes e.d.) moeten in een koffer aangeleverd kunnen worden. Deze koffer zou te huur moeten zijn voor een redelijk bedrag.

1.3.2 Opbouw verslag

Micronit heeft een chip gemaakt waarmee diëlektroforese (hoofdstuk 2) mogelijk is, dit onderzoek spitst zich daarom toe op dit verschijnsel. Naar aanleiding van de testen die gedaan zijn met deze chip (hoofdstuk 3) is een andere chip ontworpen (hoofdstuk 4) die geschikt is om op middelbare scholen te gebruiken als practicum. Een bijbehorende handleiding (bijlage) is ook geschreven. In hoofdstuk 5 worden conclusies getrokken uit het onderzoek en worden aanbevelingen voor vervolgonderzoek gegeven.

Hoofdstuk 2

Diëlektroforese

Dit hoofdstuk gaat over diëlektroforese. Eerst wordt de theorie uitgelegd, dan wordt beargumenteerd waarom deze theorie geschikt is om op de middelbare school te geven, en tenslotte wordt aangegeven waarom dit onderwerp als practicum gegeven zou moeten worden.

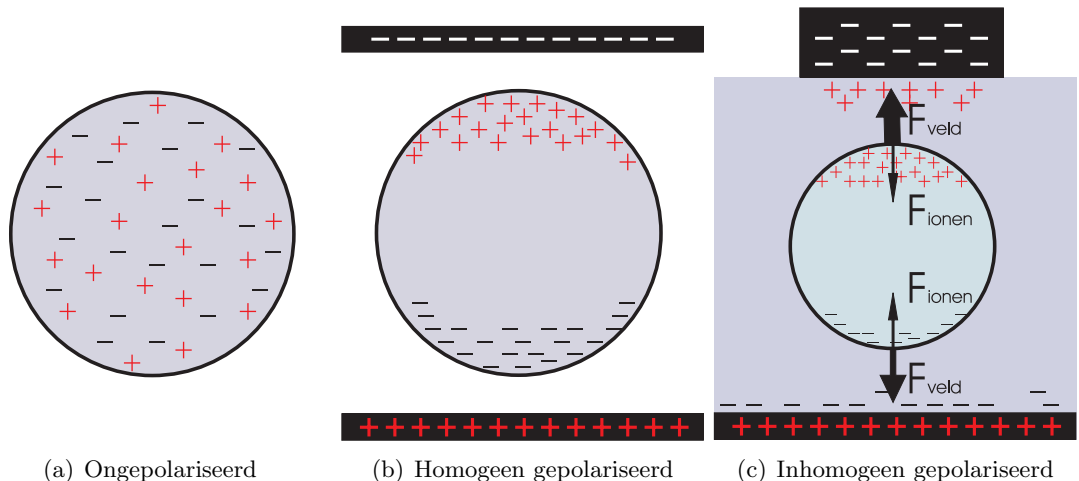
2.1 Theorie

Wanneer een deeltje in een elektrisch veld gebracht wordt ondervindt het verschillende krachten. Bij een geladen deeltje is er sprake van elektroforese, bij een ongeladen diëlektrisch deeltje in een inhomogeen veld is er sprake van diëlektroforese. Beide verschijnselen worden hier uitgelegd.

2.1.1 Elektroforese

Wanneer een geladen deeltje zich in een vloeistof bevindt kan dit onder invloed van een elektrisch veld gaan bewegen; het deeltje ondervindt een kracht ten gevolge van het elektrische veld. In de vloeistof ondervindt het deeltje ook een tegenwerkende kracht door de viscositeit van de vloeistof. Uiteindelijk zal het deeltje met een constante snelheid gaan bewegen omdat beide krachten na versnelling even groot zullen zijn. De snelheid hangt zodoende af van de lading van het deeltje (een grotere lading ondervindt een grotere kracht door het elektrische veld), de grootte en de vorm van het deeltje (een groter deeltje ondervindt grotere wrijvingskracht door het medium, en een gestroomlijnd deeltje zal weinig weerstand ondervinden). Daarnaast speelt, zoals hiervoor al gezegd, de viscositeit van het medium een rol (een vloeistof met hogere viscositeit zal een lagere snelheid tot gevolg hebben dan een vloeistof met een lage viscositeit) (Wikipedia, 2010).

Wisselspanning Wanneer het aangebrachte veld snel verandert van polariteit, dus wanneer er in plaats van gelijkspanning wisselspanning wordt aangebracht, zal het deeltje in de richting van het veld meeveranderen. Gaat het deeltje eerst van rechts naar links, dan zal bij verandering van polariteit het deeltje van links naar rechts. Het wordt het deeltje eigenlijk van het kastje naar de muur gestuurd. Wanneer de frequentie steeds hoger wordt zal het deeltje steeds kleinere afstanden afleggen omdat de tijd korter wordt tussen ompolen. Is de frequentie hoog genoeg dan zal het zijn alsof het deeltje stil staat. Wanneer er wel gewerkt wordt met een elektrisch veld, en de kracht ten gevolge van elektroforese moet verwaarloosbaar zijn, dan is een veranderend elektrisch veld met een frequentie van minimaal 1kHz de oplossing.



Figuur 2.1: Het polariseren van een diëlectrisch deeltje. Wanneer een ongepolariseerd diëlectrisch deeltje in een elektrisch veld wordt gebracht verschuiven de ladingen in het deeltje zodat het deeltje wel gepolariseerd is. In (b) is te zien dat met een homogeen veld het deeltje ook homogeen polariseert, de aantrekkende krachten zijn aan beide kanten even groot omdat de ladingsverschillen evengroot zijn. In (c) is te zien wat er gebeurt met een inhomogeen veld. Het deeltje zal naar het punt gaan waar de veldlijnen het dichtst bij elkaar liggen, in dit geval naar boven toe.

2.1.2 Diëlektroforese

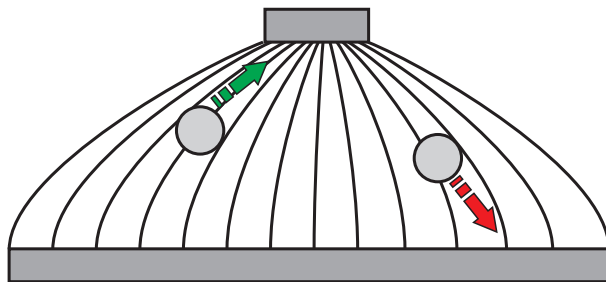
Een diëlectrisch deeltje is een deeltje dat gepolariseerd kan worden onder invloed van een elektrisch veld. Zonder elektrisch veld is het een ongeladen deeltje, maar wanneer een elektrisch veld wordt aangebracht verschuiven de ladingen in het deeltje zodat het deeltje wel gepolariseerd wordt, zie figuur 2.1(a) en 2.1(b).

Als een deeltje in een inhomogeen elektrisch veld gelaatst wordt ontstaat er kracht ten gevolge van diëlektroforese. Ongeladen diëlectrische deeltjes zullen door polarisatie in inhomogene elektrische velden gaan bewegen, zie figuur 2.1(c). Dit figuur is wat versimpeld om het duidelijk te maken. De kracht hangt namelijk niet alleen af van de polariseerbaarheid van het deeltje maar ook van het omringende medium. Als het medium makkelijk polariseerbaar is zullen de ionen van het medium tegen de elektrodes aan gaan liggen. Het deeltje zal dan aangetrokken worden door de ionen, en zal dan naar het deel gaan met de grootste gradient veldlijnen (positieve diëlektroforese). Wanneer het medium moeilijker polariseert dan het deeltje zal het deeltje van de elektrodes afgeduwd worden en zal dus naar het deel gaan met de laagste gradient veldlijnen (negatieve diëlektroforese). (IBMM, 2010)

Wisselspanning De kracht van elektroforese is vele male groter dan de kracht door diëlektroforese. Wanneer diëlektroforese gebruikt wordt, zal de kracht van elektroforese dus verwaarloosd moeten worden. Dit kan, zoals eerder beschreven, door wisselspanning te gebruiken met een frequentie van minimaal 1kHz. Het deeltje zal dan slechts een kracht ten gevolge van diëlektroforese ondervinden. Die kracht op een rond deeltje wordt gegeven door:

$$\langle F_{DEF} \rangle = 2\pi r^3 \epsilon_m \Re \left\{ \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \right\} \Delta \left| \vec{E}_{rms} \right|^2 \quad (2.1)$$

Hierin is r de radius van het ronde deeltje, ϵ_m de complexe permittiviteit van het medium, ϵ_p de complexe permittiviteit van het deeltje en \vec{E}_{rms} de sterkte van het elektrische veld.



Figuur 2.2: Twee verschillende deeltjes in een inhomogeen elektrisch veld. Het linkerdeeltje kan meer gepolariseerd worden dan het medium en zal naar het sterkste veld toegedruwd worden (positieve diëlektroforese). Het rechterdeeltje is minder polariseerbaar dan het medium en zal van het sterke veld afgedruwd worden (negatieve diëlektroforese).

De kracht kan zowel positief als negatief zijn, afhankelijk van de polariseerbaarheid van het medium en het deeltje. Wanneer de kracht positief is zal het deeltje naar de hoogste gradient veldlijnen toegedruwd worden, wanneer de kracht negatief is zal het deeltje van de sterkste gradient afgedruwd worden, zie figuur 2.2.

De kracht is sterk afhankelijk is van de volume van het deeltje (r^3). Daarnaast is het reële deel in de formule, ook wel de Clausius-Mossotti functie genoemd, frequentieafhankelijk. Voor deeltjes van verschillende groottes in demiwater is de frequentieafhankelijke kracht te zien in figuur 2.3. Wanneer de kracht positief is (bij frequenties lager dan 1,5MHz) wordt het deeltje naar de grootste gradient van het veld toegedruwd, dit is positieve diëlektroforese. Wanneer de kracht negatief is (bij frequenties hoger dan 1,5MHz) wordt het deeltje naar de laagste veldgradient toegedruwd, dit is negatieve diëlektroforese. Wanneer de deeltjes uiteindelijk zijn waar ze heengedruwd worden zullen ze tot stilstand komen.

2.2 Geschikt als lesstof

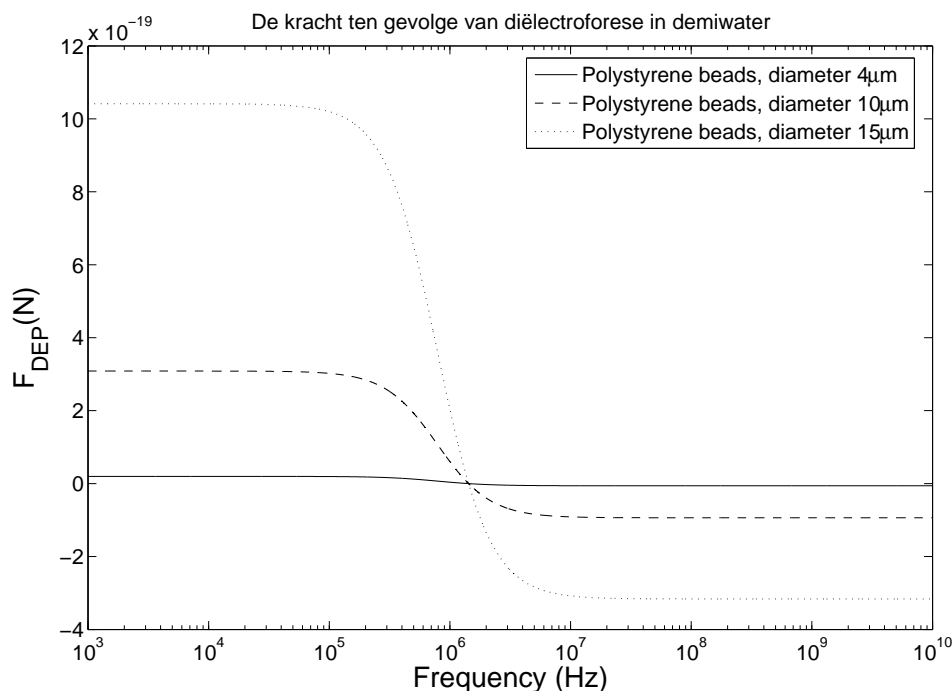
De hierboven beschreven theorie zou ook gegeven moeten worden aan leerlingen die een practicum zouden doen met betrekking tot diëlektroforese. Waarom dit geschikte lesstof is wordt hier uiteengezet.

2.2.1 Toepassing

De hierboven beschreven theorie wordt op dit moment ondermeer toegepast bij het scheiden van bloedcellen. Hiermee is het een techniek waarvan de toepassing duidelijk gemaakt kan worden met een aansprekend voorbeeld. Daarnaast komt het vakoverstijgende aspect hier kijken; het gebruiken van de theorie uit de natuurkunde om in de biologie scheiding van cellen toe te passen.

2.2.2 Examenonderwerpen

De theorie beslaat domeinen B1 (Elektrische stroom), B3 (Elektromagnetisme) en C2 (Kracht en moment) uit de natuurkunde (Kennisset, 2009). Hiermee combineert het verschillende domeinen (B en C) van de natuurkunde tot een interessante theorie. Daarnaast wordt uit NLT het domein F (Biomedische technologie en biotechnologie) gebruikt omdat de toepassing van deze techniek in de biomedische hoek zit.



Figuur 2.3: De kracht op ronde deeltjes van verschillende groottes in demiwater. De horizontale as is logaritmisch. Te zien is dat voor frequenties lager dan 1,5MHz positieve kracht aanwezig is, voor frequenties hoger dan 1,5MHz een negatieve kracht. De spanning is $10V_{p-p}$, de elektrodes liggen $10\mu m$ uit elkaar.

2.2.3 Multidisciplinair

De toepassing van deze techniek is biologisch, de theorie natuurkundig waarbij wiskundige vaardigheden worden gebruikt, en de frequentieafhankelijkheid hangt af van de scheikundige eigenschappen van het deeltje en het medium. Dit maakt deze techniek multidisciplinair. Leerlingen kunnen zo ook zien dat in dit werkveld in multidisciplinaire teams gewerkt zal worden. Een beeld van het werkveld waar ze later in terecht kunnen komen wordt zo ook gegeven.

2.3 Practicum

Met relatief eenvoudige middelen zoals een toongenerator, demiwater, deeltjes en de chip met behuizing kan diëlectroforese al gedemonstreerd worden, of door leerlingen zelf uitgevoerd worden.

Beter dan een simulatie Deze techniek kan ook gesimuleerd worden in plaats van een practicum te laten doen. Er zijn verschillende redenen waarom een practicum voordelen heeft ten opzichte van een simulatie:

1. Geen 'black box'. Wanneer er daadwerkelijk bekeken kan worden wat er gebeurt in plaats van het op een beeldscherm te zien worden de resultaten eerder voor waar aangenomen
2. Onderzoeksvaardigheden. Leerlingen zien ook wat er allemaal mis kan gaan, ervanuitgaande dat de eerste keer niet alles goed zal gaan. Ze zullen probleemoplossend te werk moeten gaan en eventuele problemen stapsgewijs op moeten lossen.

3. De grootte van het geheel zien. Lab on a Chip is een techniek die met hele kleine cellen werkt, die met het blote oog niet te zien zijn. Leerlingen moeten eerst door de microscoop kijken voordat ze zien wat er gebeurt. Deze ervaring zullen ze niet krijgen wanneer er met een simulatie gewerkt wordt.
4. Actie-reactie. Omdat de deeltjes echt bewegen wanneer de spanning wordt aangebracht is er daadwerkelijk sprake van actie-reactie, wat leerlingen kan verwonderen en motiveren. Dit werkt beter dan wanneer er in de simulatie op een knop gedrukt wordt en de deeltjes gaan bewegen omdat dat de verwachting is.

Het voordeel van een simulatie boven een practicum is dat de kans op meet- of opstellingsfouten sterk verkleind wordt en dat het tijd scheelt in verband met het op- en afbouwen van de opstellingen.

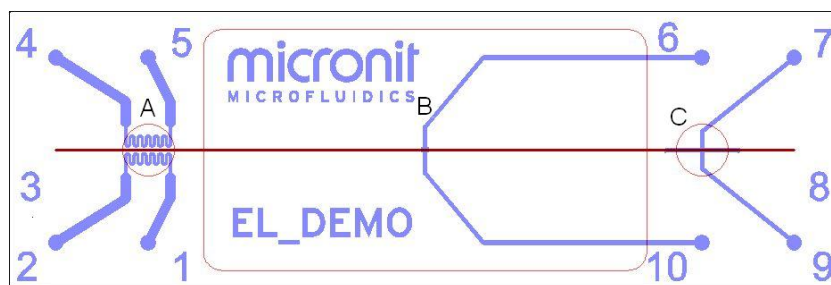
Hoofdstuk 3

De EL DEMO chip

Het bedrijf Micronit heeft een ongeveer een jaar geleden een EL_DEMO chip gemaakt. Het doel van deze chip was het onderzoeken en te demonstreren wat kan met elektrodes op een chip.

3.1 De chip layout

In figuur 3.1 is de layout van de chip te zien. De vloeistof stroomt van links naar rechts en zal respectievelijk functies A, B en C passeren.



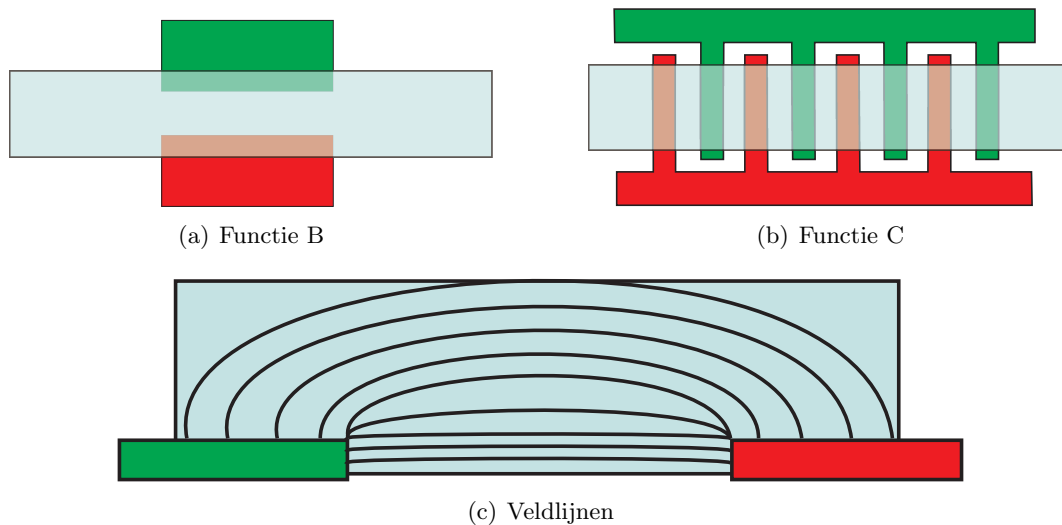
Figuur 3.1: De layout van de chip. Het kanaal loopt van nummer 3 naar nummer 8, en zal resp functie A, B en C passeren. Deel A zijn twee verwarmingselementen waarmee ook de temperatuur gemeten kan worden. Deel B zijn twee elektrodes aan de bovenkant en onderkant van het kanaal. Deel C zijn elektrodes die over de breedte van het kanaal liggen.

Specificaties De afmetingen van de glazen chip zijn als volgt:

Lengte	45mm
Breedte	15mm
Diepte kanaal	20 μm
Breedte kanaal	100 μm

Tabel 3.1: Afmetingen Chip

De chip is gemaakt van glas, de elektrodes zijn gemaakt van platina.



Figuur 3.2: Functies B en C op de EL_DEMO chip van micronit. In (c) is te zien dat op de elektrodes de hoogste dichtheid veldlijnen aanwezig is, en in de bovenhoeken de laagste dichtheid veldlijnen. Dit komt doordat de elektrodes op de bodem van het kanaal liggen.

3.1.1 Functie A

Wanneer de vloeistof van links naar rechts stroomt zal het eerst langs het verwarmingselement komen. Hiermee kan door verandering van weerstand ook temperatuur gemeten worden. De elektrodes raken het kanaal niet, en kunnen aangestuurd worden met gelijkspanning. Dit onderzoek richt zich op diëlektroforese, en er zal dus niet verder ingegaan worden op deze functie.

3.1.2 Functie B

Daarna zal de vloeistof door deel B komen. Dit zijn twee platinum elektrodes, aan de bovenkant en onderkant (wanneer de chip van boven wordt bekeken) van het kanaal, zie figuur 3.2(a). De elektrodes bevinden zich op de bodem van het kanaal en hebben een afstand tot elkaar van $40\mu\text{m}$. Wanneer gelijkspanning wordt aangebracht op de elektrodes zullen deze elektrolyseren en hierna niet meer werken. Er moet dus wisselspanning zonder offset op aangesloten worden. De veldlijnen zullen vertikaal lopen (wanneer de chip van bovenaf wordt bekeken).

3.1.3 Functie C

Functie C heeft tevens elektrodes in het kanaal liggen. Deze liggen vertikaal over het hele kanaal, zie figuur 3.2(b). Hierdoor lopen de veldlijnen horizontaal.

3.2 Voor- en nadelen

Om de EL-DEMO chip te testen op het plan van eisen (in het bijzonder op gebruiksvriendelijkheid) heb ik verschillende testen met gistcellen en polystyrene bolletjes van verschillende maten ($4\mu\text{m}$, $10\mu\text{m}$ en $15\mu\text{m}$) gedaan. Dit is gebeurd in het laboratorium van Micronit. Hierbij zijn verschillende positieve en negatieve punten naar voren gekomen, deze zijn hier uiteengezet.

3.2.1 Fluidic Connect

Om de chip te kunnen gebruiken moet de chip in een houder geschoven worden, de Fluidic connect, zie figuur 3.3. Hiermee worden de fluidische en elektrische connecties gemaakt op de chip.

Vanaf de bovenkant is alleen functie B te zien. Vanaf de onderkant zijn functies A en C wel te zien.

3.2.2 Microscoop

De biologie-microscoop op de meeste scholen gebruikt wordt heeft drie vergrotingen; 100x, 200x en 400x. Omdat het kanaal in de chip zit kan de grootste vergroting niet gebruikt worden; de afstand tussen de lens en het kanaal is te groot om het scherp te krijgen. Daarnaast zijn de uitsparingen om de functies A en C te bekijken te klein om de 200x dichtbij genoeg te bekijken om het beeld scherp te krijgen, een vergroting van 100x is wel mogelijk. De microscopen hebben slechts onderbelichting. Omdat het metaal van de bovenkant het licht blokkeert is het beeld te donker om de functies te kunnen onderscheiden. Bovenbelichting is niet ideaal omdat de meeste scholen hier niet genoeg sterke kleine lampen voor heeft.

3.2.3 Chip layout

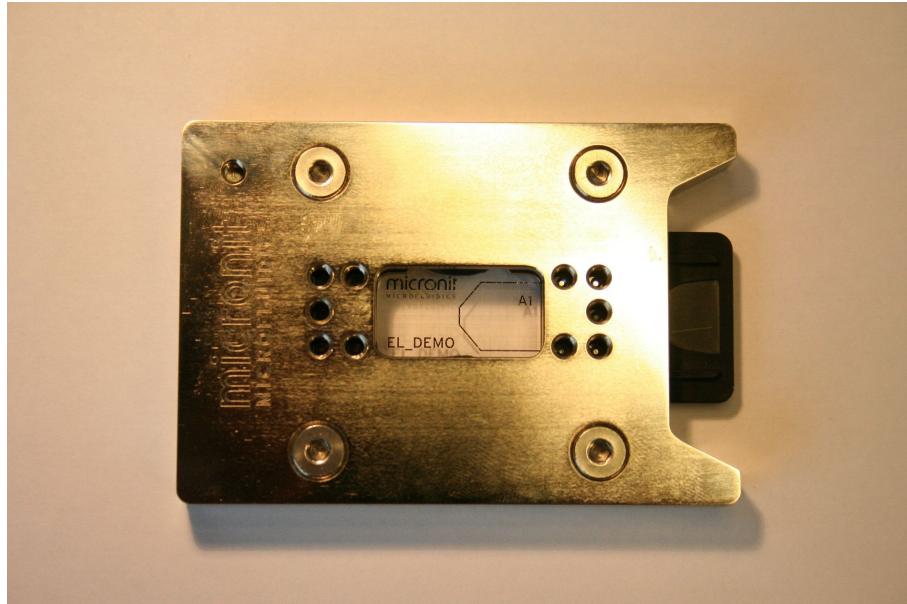
De elektrodes liggen op de bodem van het kanaal. Wanneer functie C vanaf de onderkant bekeken wordt blokkeren de elektrodes het zicht op het kanaal. Wanneer er deeltjes op de elektrodes komen te liggen zijn deze niet meer te zien. Functie B is vanaf de bovenkant te zien dus deeltjes op de elektrodes zijn wel te zien. Wanneer er elektrodes op de bodem van het kanaal liggen is bekijken van de onderkant dus niet gewenst.

3.2.4 Functionele werking chip

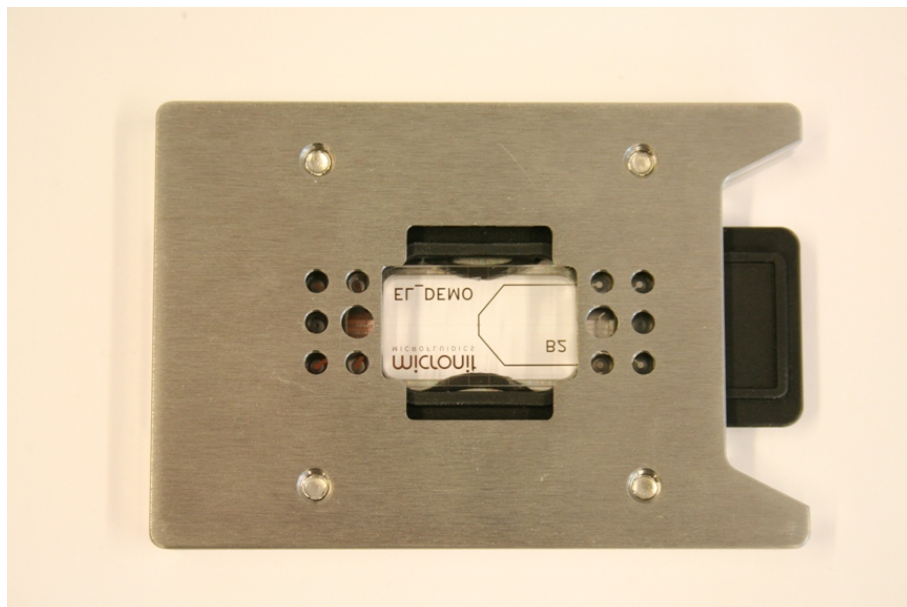
De werking van de chip is getest met gistcellen en polystyrene bolletjes ($4\mu\text{m}$, $10\mu\text{m}$ en $15\mu\text{m}$) in demiwater. Gistcellen zijn niet geschikt wanneer de chip herbruikbaar moet zijn omdat deze cellen aan de wanden van het kanaal blijven plakken. Op een frequentie van 200kHz werkt er positieve diëlektroforese op de polystyrene bolletjes.

Functie B Deeltjes worden naar de elektrodes van functie B toegetrokken wanneer er wisselspanning over de elektrodes staat. De deeltjes blijven op de elektrodes zitten. Wanneer de spanning eraf wordt gehaald vervolgen de deeltjes hun weg naar het einde van het kanaal.

Functie C De diëlektroforese werkt ook zoals verwacht, evenals bij B. Bij functie C was gedacht door de amplitude en daarmee de sterkte van het elektrische veld te variëren, grotere deeltjes wel stil te laten staan en de kleinere niet. Voor elke elektrode die gepasseerd wordt zal het deeltje langzamer gaan omdat er een tegenwerkende kracht is. Grotere deeltjes staan eerder stil dan de kleine, maar nog voordat de helft van de afstand van de elektrodes is bereikt staan



(a) Bovenkant



(b) Onderkant

Figuur 3.3: De fluidic connect met de EL_DEMO chip. Hierin is te zien dat van de bovenkant alleen functie B te zien is. Vanaf de onderkant zijn functies A en C wel te zien, maar de openingen daarvan zijn erg klein.

alle deeltjes stil en raakt het kanaal verstopt. De lengte van de elektrodes is dus te groot voor een practicum waarbij het scheiden van deeltjes gedemonstreerd wordt.

3.3 Technasium Holten

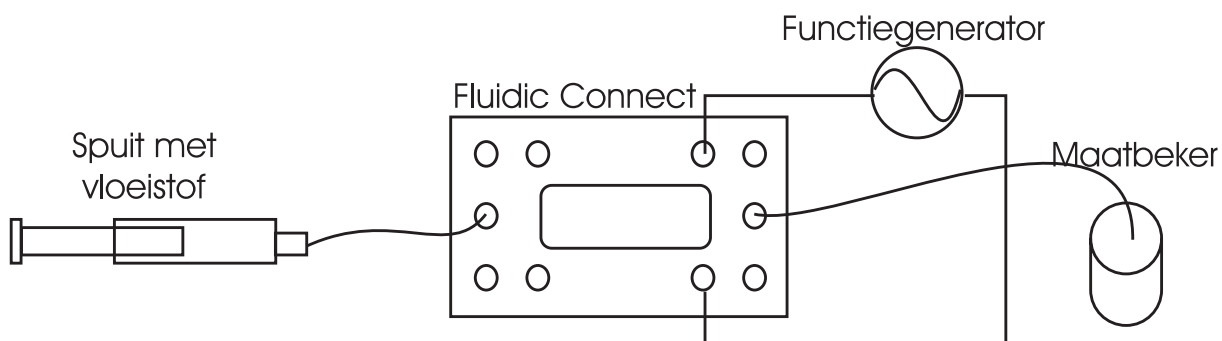
Drie leerlingen van de Waerdenborgh in Holten zijn in het kader van het keuzeproject op het Technasium aan de slag gegaan met de EL_DEMO chip en de fluidic connect. Dit liep gelijk met dit project. Omdat het over dezelfde chip ging als waar ik mee aan de slag was ben ik vanuit Micronit naar Holten gegaan om de leerlingen te helpen met het materiaal en uitleg te geven over diëlektroforese. Hierbij heeft docent Ton Hillige hen direct begeleidt, de leerlingen hebben zelf het materiaal in de school bij elkaar gezocht, zoals microscoop, spuitjes, maatbekers en dergelijke. Wanneer er problemen waren met het materiaal of de chip ben ik naar Holten gereisd om de problemen met de leerlingen op te lossen.

Na een korte presentatie over Lab on a Chip, de fabricage van chips en diëlektroforese zijn zij aan de slag gegaan. De opdracht was om bekijken wat met de EL_DEMO chip mogelijk is, en te kijken wat de EL_DEMO chip voor toepassingen in een biomedisch vakgebied kan hebben. De opstelling die ze hebben gebruikt zag er uit als in Figuur 3.4.

De leerlingen liepen tegen een paar problemen op bij het werken met het materiaal:

- Het is nog lastig aanvoelen hoe strak de aansluitingen aangedraaid mogen worden
- Niet alle tubing was gecontroleerd vantevoren; er was er één verstopt wat voor lekkage op de chip zorgde. Omdat leerlingen nog niet probleemoplossend te werk gaan (stap voor stap mogelijke oorzaken bekijken en uitsluiten) heeft dit probleem helaas een aantal middagen gekost
- De polystyrene bolletjes zorgden soms voor verstopping bij de ingang van het kanaal
- Het aanvoelen van het duwen op de spuit was nog erg lastig om een juiste snelheid te creëren.

Uiteindelijk hebben de leerlingen het geheel wel werkend kregen, al was het met erg veel moeite. De grootste problemen lagen in verstopte tubing en lekkage door niet juist aandraaien. Er moet meer getest worden om dit op een juiste manier vast te leggen in een TOA-handleiding. De conclusie was dat zij geen toepassing hebben kunnen vinden met de EL_DEMO chip.



Figuur 3.4: De opstelling zoals de leerlingen van de Waerdenborgh in Holten hebben gebruikt. In de midden de Fluidic Connect. De functiegenerator is aangesloten op de middelste set elektrodes, en de ingang van het kanaal is links. De uitgang van het kanaal komt uit in de maatbeker.

Hoofdstuk 4

De nieuwe chip

De conclusie na de testen met de EL_DEMO chip is dat er te veel nadelen aan kleven om er een gebruiksvriendelijk practicum van te maken. Dit is ook naar aanleiding van de resultaten van de leerlingen van de Waerdenborgh. Hierin bleek dat de interessante functies namelijk niet met de lichtmicroscop te bekijken zijn. Daarom is er gekeken naar een ander ontwerp van een chip dat op het principe van diëlektroforeserust. Hierin is overleg geweest met Loes Segerink van de vakgroep BIOS. Haar ontwerp dat gebruikt wordt tijdens demonstraties is de basis geweest van de nieuw ontworpen chip.

4.1 Eisen

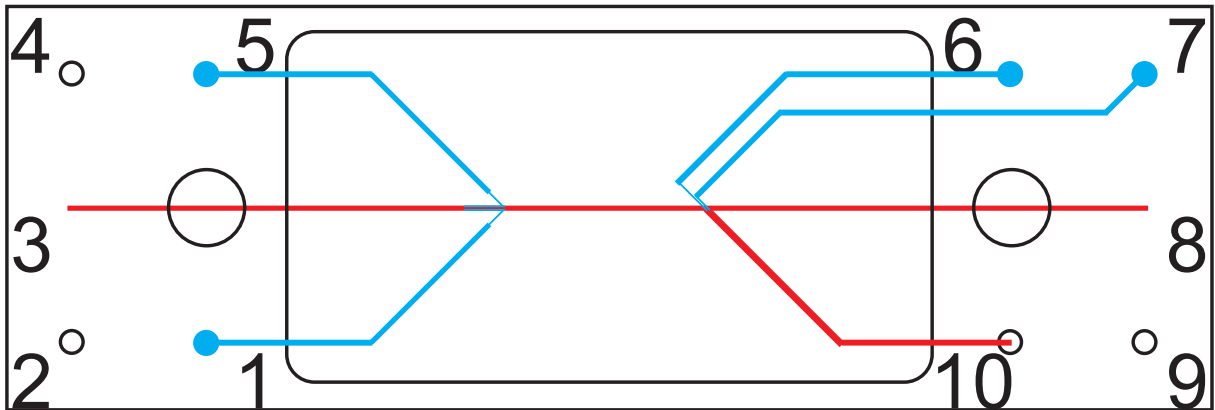
Het doel van deze chip is dat leerlingen met de materialen die op school zijn en de fluidic connect een practicum uit kunnen voeren. Er zijn verschillende eisen:

- Alle functies op de chip moeten te zien zijn met de 200x vergroting. Dit houdt in dat alle functies in het midden van de chip, in het kijkvenster van de fluidic connect, moeten zitten
- Het kanaal loopt over het midden van de chip, dus van nummer 3 naar nummer 8. Dit zodat het kanaal in het midden van het kijkvenster ligt.
- Het practicum is gebaseerd op diëlektroforese, dus moeten er elektrodes worden aangebracht op de chip. Hierin moet het ontwerp zo worden gemaakt dat grote en kleine bolletjes kunnen worden gemainpuleerd met de sterkte van het elektrische veld.
- Om een opbouw in het practicum te geven moeten er twee functies worden aangebracht.

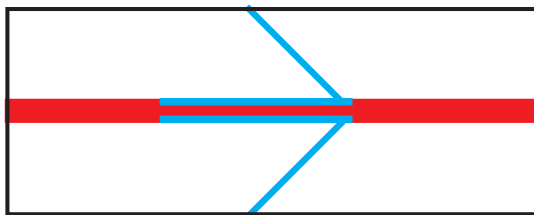
4.2 Ontwerp

Er zijn twee functies aangebracht op de chip:

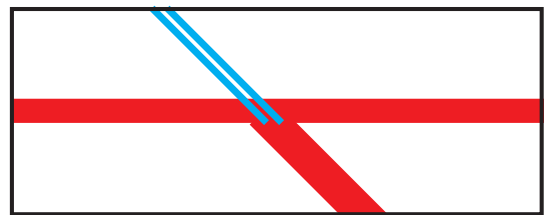
1. Om diëlektroforese uit te leggen zijn in het kanaal twee elektrodes geïmplementeerd. Hiermee kan bekeken worden of deeltjes reageren op een wisselspanningsveld, en of ze positieve of negatieve diëlektroforese ondervinden.
2. Om de toepassing in de medische wereld te demonstreren is een scheidingsysteem gemaakt waarmee deeltjes op grootte gescheiden kunnen worden. In de medische wereld wordt dat bijvoorbeeld gebruikt om rode bloedcellen te scheiden van de rest van het bloed.



(a) De nieuwe chip



(b) Functie A



(c) Functie B

Figuur 4.1: In dit figuur is het ontwerp van de nieuwe chip gegeven. In figuur 4.1(b) is de linkerfunctie uitvergroot. Hiermee kunnen leerlingen het effect van diëlektroforese zien. In figuur 4.1(c) is de rechterfunctie uitvergroot. Hiermee kunnen leerlingen inzicht krijgen wat de toepassingen van diëlektroforese kunnen zijn.

De afstand tussen de elektrodes en de breedte van de elektrodes is voor beide functies gelijk om een goede vergelijking te kunnen maken. Bij het eerste deel kunnen de variabelen uitgetest worden (bijvoorbeeld wat een optimale spanning is) die bij het tweede deel gebruikt kunnen worden, dit scheelt tijd.

4.3 Handleiding

Het doel van de handleiding is leerlingen een inleiding te geven in Lab on a Chip en door middel van vragen en opdrachten inzicht te geven met wat voor kleine volumes hier gewerkt wordt. Een deel theorie over diëlektroforese wordt gegeven, evenals uitleg over het fabricageproces van een chip.

Een complete handleiding kan nog niet gerealiseerd worden. Dit omdat het definitieve ontwerp van de chip er nog niet is, en daarom een stap voor stap handleiding voor het aansluiten er nog niet is.

De handleiding is bijgevoegd als bijlage, evenals een docenten- en TOA-handleiding. In de laatste staan antwoorden op de opdrachten, en tips voor de TOA wanneer het aansluiten niet lukt. Omdat het ontwerp van de chip nog niet bekend is, moet deze nog verder aangevuld worden.

Hoofdstuk 5

Conclusie en Aanbevelingen

Na een traject van bijna een jaar is er veel bereikt. Het traject om een nieuwe NLT-module over Lab on a Chip te ontwikkelen is gestart, en er is bekeken of een practicum geschikt zou kunnen zijn voor 5VWO leerlingen. Daarnaast zijn leerlingen van de Waerdenborgh ook bezig geweest met de techniek en zijn ze daarin begeleid door mij.

Het doel van dit onderzoek is, zoals ook in de inleiding stond:

Verzorg een practicum met Lab on a Chip als onderwerp voor 5VWO leerlingen dat twee lesuren in beslag neemt. Zorg voor een pakket practicummateriaal en een handleiding voor leerlingen, docent en TOA.

De onderzoeksvraag is: *Is het mogelijk om een practicum te realiseren dat voldoet aan bovenstaand doel met de materialen die Micronit ter beschikking stelt?*

Het antwoord op de onderzoeksvraag is dat het niet mogelijk is om met de huidige EL_DEMO chip een practicum te realiseren. De functies zitten óf niet in het deel dat met de lichtmicroscop bekeken kan worden, of de lay-out van de functie is nog niet optimaal (functie C). Daarnaast was er nogal eens sprake van verstopping van het kanaal. Hierdoor is de chip niet geschikt voor een leerlingenpracticum.

Om terug te komen het plan van eisen:

Onderwerp	Eis
Leerdoel	Beeld geven over Lab on a Chip
Niveau	5VWO
Tijd	2 klokuren
Spanning	Max 20V
Vloeistoffen	Beschikbaar op school Geschikt om door leerlingen gebruikt te worden
Microscop	Standaard lichtmicroscop
Metingen	IP-Coach aansluiting
Practicummateriaal	Beschikbaar in koffer
Kosten	€25 per set

Tabel 5.1: Plan van Eisen voor het practicum Lab on a Chip. Deze tabel is eerder al in hoofdstuk 1.3.1 behandeld.

De handleidingen zijn geschreven, zie bijlage. De handleiding is nog niet bekeken door derden (bijvoorbeeld docenten die in het NLT-ontwikkelingsteam zitten), en hierdoor kunnen doelgroep, niveau en de tijd nog niet geëvalueerd worden. Het pakket practicummateriaal is nog niet compleet, daarom kunnen de maximale spanning en de kosten nog niet beoordeeld worden. De vloeistoffen die gebruikt gaan worden hangen af van de eerste tests met de nieuwe chip. Omdat deze nog niet in productie is kan deze eveneens niet beoordeeld worden.

Ik raad aan om in vervolgonderzoek de nieuw ontworpen chip te testen en als practicum te testen voor 5VWO leerlingen in een tijdsbestek van twee lesuren, en hierin dus het Plan van Eisen wel te evalueren. Hierbij kan gebruik gemaakt worden van de handleiding die er ligt als inleiding op Lab on a Chip en diëlektroforese.

In de handleiding zal nog een stappenplan moeten worden opgenomen hoe de chip zal moeten worden aangesloten. Hierin zijn duidelijke foto's belangrijk en een duidelijke omschrijving bij iedere handeling.

IPCoach In dit onderzoek is er niet gekeken naar de aansluiting op IPCoach. Dit omdat IPCoach geen wisselspanningen kan genereren. Voor metingen van bijvoorbeeld geleiding zou het wel geschikt zijn.

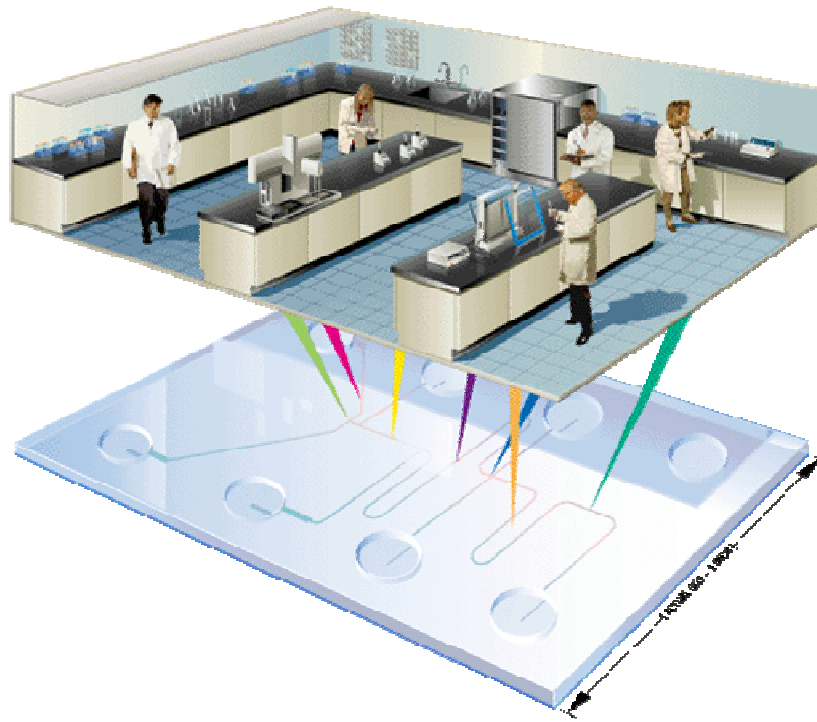
Waerdenborgh De leerlingen van de Waerdenborgh in Holten zijn met plezier bezig geweest met deze nieuwe techniek. Ze vonden het moeilijk om de chip goed aan te sluiten, en zijn heel lang bezig geweest met problemen oplossen. De grootste aanbeveling die ik van de leerlingen meekreeg was om een systeem te verzorgen waarbij alles makkelijk aan te sluiten is en verstopping tot een minimum beperkt wordt.

Literatuur

- IBMM. (2010). *Dielectrophoresis*. Verkregen op 25-03-2010, via <http://www.ibmm-microtech.co.uk/microeng/dielectrophoresis/dielectrophoresis.php>
- Kennisnet. (2009). *Examen — vwo — examenonderwerpen*. Verkregen op 15-04-2010, via <http://examen.kennisnet.nl/vwo/examenonderwerpen2010>
- Kramers-Pals, H., Schravendijk, J. van, Bouma, H., Gruijter, J. de & Metselaar, M. (2008). *Show de chemie* (eerste dr.). NVON.
- NLT, B. (2010). *Betavak nlt*. Verkregen op 01-07-2010, via <http://www.betavak-nlt.nl/>
- NWO. (2009). *Nwo-spinozapremie voor minilaboratoria, hoofdpijn en transities*. Verkregen op 02-11-2009, via http://www.nwo.nl/nwohome.nsf/pages/NWOA_7SMJQ2
- Technasium. (2010). *Technasium*. Verkregen op 01-07-2010, via <http://www.technasium.nl/>
- Wikipedia. (2010). *Electroforese*. Verkregen op 25-03-2010, via <http://en.wikipedia.org/wiki/Electrophoresis>

Handleiding practicum Lab on a Chip

Diëlectroforese



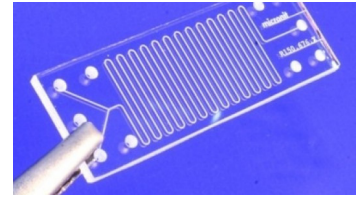
Inhoud

Inleiding.....	3
Fabricage	4
Theorie	8
Dimensies chip.....	12
Practicum.....	13

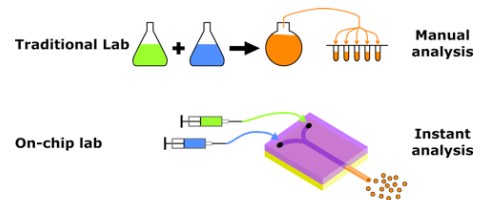
Inleiding

Wat is Lab on a Chip?

Lab on a Chip is, zoals de naam al doet vermoeden, een laboratorium op een chip. Denk je een microscoopglasje in met in het midden van het glas kanaaltjes en elektrodes, zoals hiernaast op de foto staat. Hiermee kunnen bijvoorbeeld vloeistoffen onderzocht worden of gescheiden worden.



Één van de voordelen van deze techniek is dat de analyse van vloeistoffen minder tijd kost. De volumes van de kanalen in de chip zijn heel klein (daar komen we later nog op terug) en daardoor komen de stoffen direct met elkaar in aanraking. Hierdoor reageren de stoffen sneller met elkaar en gaat de analyse sneller.



Daarnaast zijn de volumes van de benodigde vloeistoffen veel kleiner zijn; er is slechts een druppel bloed nodig in plaats van een buisje, en van dure chemicaliën zijn ook kleinere hoeveelheden nodig. Hiermee worden kosten bespaard en ongemak voor een patiënt.

Een ander voordeel is dat alles zo klein is dat de testen niet meer in het laboratorium gedaan hoeven te worden; het kan evengoed bij een onderzoek ter plekke of bij de patient thuis gedaan kan worden. Dit scheelt in tijd dat bijvoorbeeld bloedonderzoek kost, en in de kosten voor bijvoorbeeld het laboratoriumpersoneel. Het uitvoeren van het onderzoek bij de patient heet 'Point of Care' (op de plaats waar de zorg nodig is).

De toepassingen van deze techniek liggen zoals eerder aangegeven in de zorg bij bloedonderzoek, maar DNA wordt er ook mee onderzocht. Daarnaast is een ander veld waarin Lab on a Chip wordt toegepast het bijhouden van de waterkwaliteit.

Opdracht 1: Som de hierboven genoemde voordelen puntsgewijs op en verzin zelf nog een voordeel.

Opdracht 2: Verzín zelf een toepassing van zo'n draagbaar laboratorium.

Fabricage

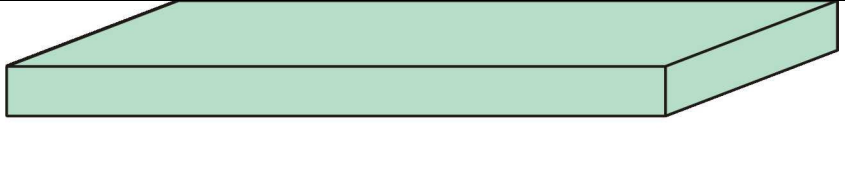

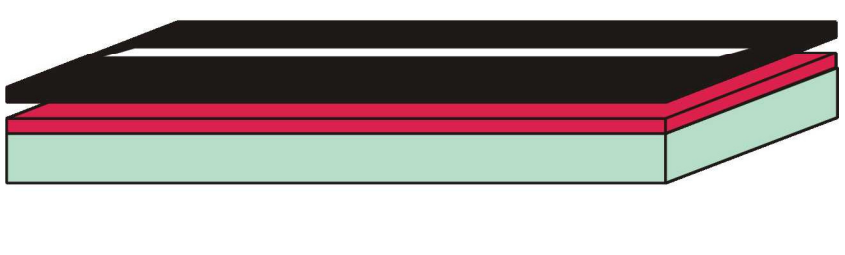

De chips worden van glas gemaakt. Het voordeel hiervan is dat de chips doorzichtig zijn. Reacties maar ook verstoppingen kunnen eenvoudig bekeken worden. Daarnaast is glas “chemisch inactief”. Dit wil zeggen dat chemicaliën niet reageren met glas. Dit is een voordeel wanneer chemicaliën in de chip worden gebracht.

De glazen chips worden in de cleanroom gemaakt. Dit is een schone (‘clean’) ruimte (‘room’), zo goed als vrij van stofdeeltjes. Een stofdeeltje is in dit geval gedefinieerd als een deeltje dat groter is dan $0,5\mu\text{m}$. De klasse van een cleanroom maakt duidelijk hoeveel stofdeeltjes aanwezig zijn in één kubieke voet lucht ($0,028\text{ m}^3$), een klasse 10.000 betekent dat er 10.000 deeltjes stof aanwezig zijn in iedere kubieke voet lucht. Ter vergelijking:

	Cleanroom	Klaslokaal
Stofdeeltjes/kubieke voet lucht	10.000	35.000.000

De chips worden, net als computerchips, op grote platen gemaakt (in dit geval glasplaten in plaats van wafers van Silicium). Aan het eind van het fabricageproces worden de chips losgesneden. Het fabricageproces bestaat uit verschillende stappen. Hieronder staan de stappen voor een enkele chip schematisch afgebeeld en uitgelegd.

Etsen van het kanaal

<p>Er wordt begonnen met een glasplaat.</p>	
<p>Er wordt een laag 'fotoresist' aangebracht. Deze laag wordt zacht wanneer er licht opvalt. Het deel waar geen licht opvalt wordt hard.</p>	
<p>Boven de fotoresist wordt een masker geplaatst. Op dit masker staat het ontwerp voor de chip; in dit geval een lang kanaal. Het kanaal is doorzichtig en op de andere plaatsen is het masker ondoorzichtig.</p> <p>Nu wordt het geheel belicht.</p>	
<p>Het masker wordt verwijderd en er is een streep in het midden waar geen fotoresist meer op zit. Hieroverheen wordt etsvloeistof aangebracht. Dit eet het glas weg waar geen fotoresist zit.</p> <p>Hierna kan de fotoresist weer worden verwijderd.</p>	

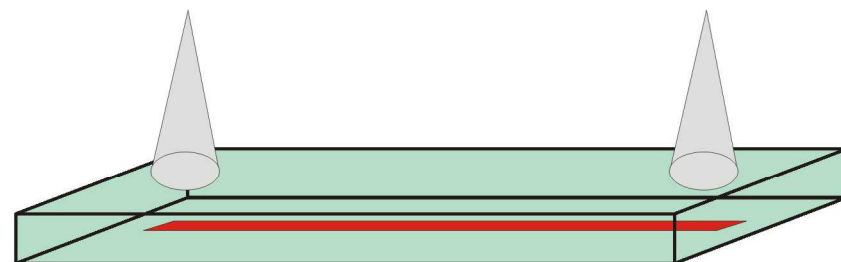
Wat overblijft is een stuk glas met een soort greppel in het midden van de chip.

Het maken van de aansluitingen voor aansluitingen

De glasplaat wordt omgedraaid zodat de kanaal aan de onderkant ligt.



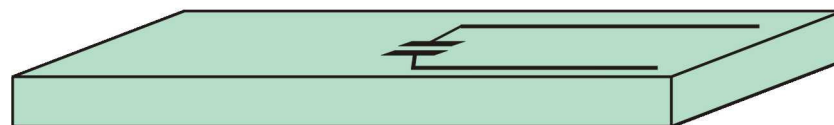
Door middel van poederstralen worden er aan het begin en aan het eind van de kanalen gaten door de chip heengestraald. Je kunt het vergelijken met zandstralen.



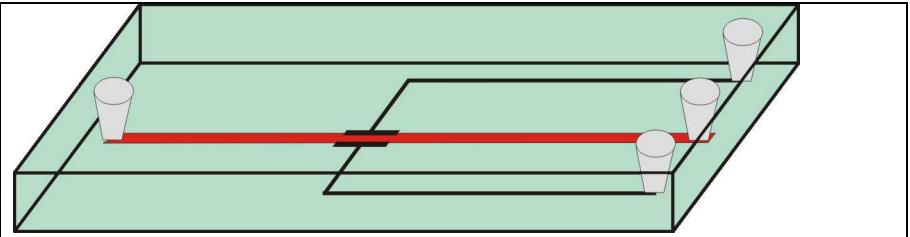
Dit wordt herhaald op de plekken waar ook het midden van de chip bereikt moet worden, in dit geval voor de elektrodes.



Op een tweede glaslaag worden van platinum elektrodes aangebracht.



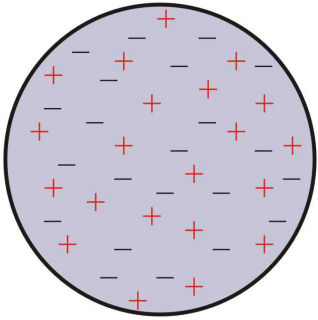
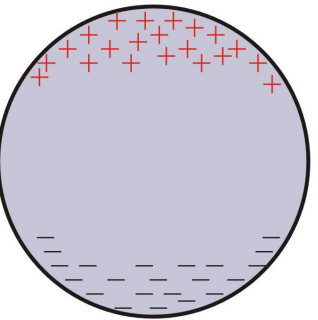
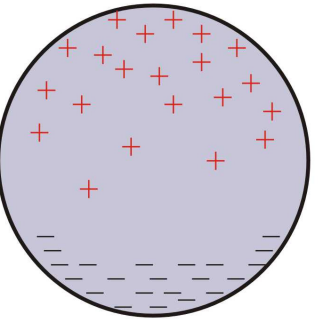
De twee lagen worden op elkaar gelegd en tot ongeveer 600 graden verwarmd. Op dat moment wil glas een covalente binding aangaan zonder dat de vorm van de glaslagen verandert. Hierdoor smelten de beide lagen aan elkaar en zit het kanaal precies in het midden van de chip. De gepoederstraalde gaten vallen op de elektrodes zodat een elektrische verbinding ook mogelijk is.



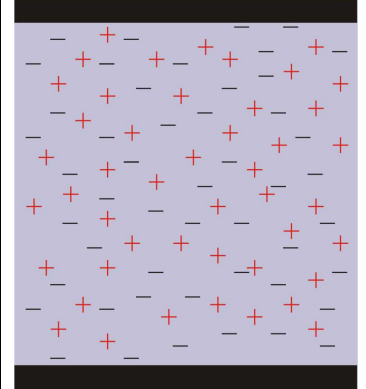
Theorie

Diëlektroforese

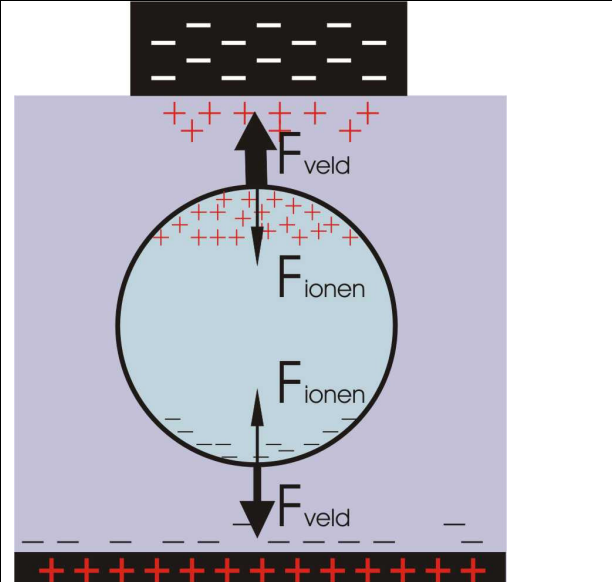
Wisselende elektrische velden (door wisselspanning) leveren een diëlektroforese kracht op **ongeladen** deeltjes. Deze kracht komt voort uit het verschil tussen de mogelijkheid om het deeltje en het medium te polariseren. Met polariseren wordt hier bedoeld om de lading naar één kant te trekken in een deeltje, zie hieronder:

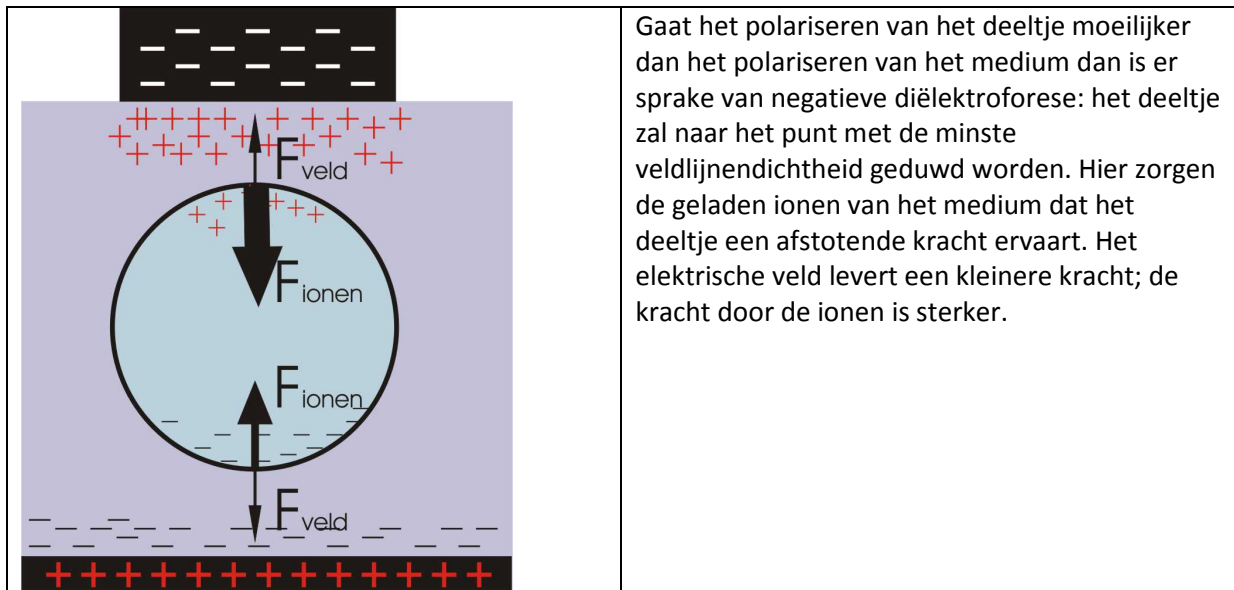
	<p>Hier is het deeltje ongepolariseerd. De lading is verdeeld over het deeltje waardoor het van buitenaf een ongeladen deeltje is.</p>
	<p>Hier is er een elektrisch veld aangebracht waardoor het deeltje gepolariseerd wordt. De lading wordt naar de buitenkanten van het deeltje getrokken. Er zijn nu twee aantrekkende krachten; van de negatieve elektrode naar de +kant van het deeltje, en van de positieve elektrode naar de -kant van het deeltje. De netto kracht is nul omdat beide krachten even groot zijn.</p>
	<p>Hier is het elektrische veld niet homogeen en zie je verschil tussen beide kanten van het deeltje. De aantrekkende kracht tussen de +elektrode en de negatieve kant van het deeltje is groter dan van de -elektrode naar de positieve kant van het deeltje. De netto kracht zal er dus voor zorgen dat het deeltje naar onderen gaat bewegen.</p>

Nu je snapt hoe het polariseren van het deeltje werkt, kun je ook voorstellen dat het medium (de vloeistof) polariseert als daar een elektrisch veld op gezet wordt:

	<p>In het medium zitten, net als in het deeltje, allemaal geladen ionen, netjes verdeeld over de vloeistof</p>
	<p>Wanneer er een elektrisch veld wordt aangebracht verdelen de ionen zich richting de elektrodes en is het medium dus gepolariseerd.</p>

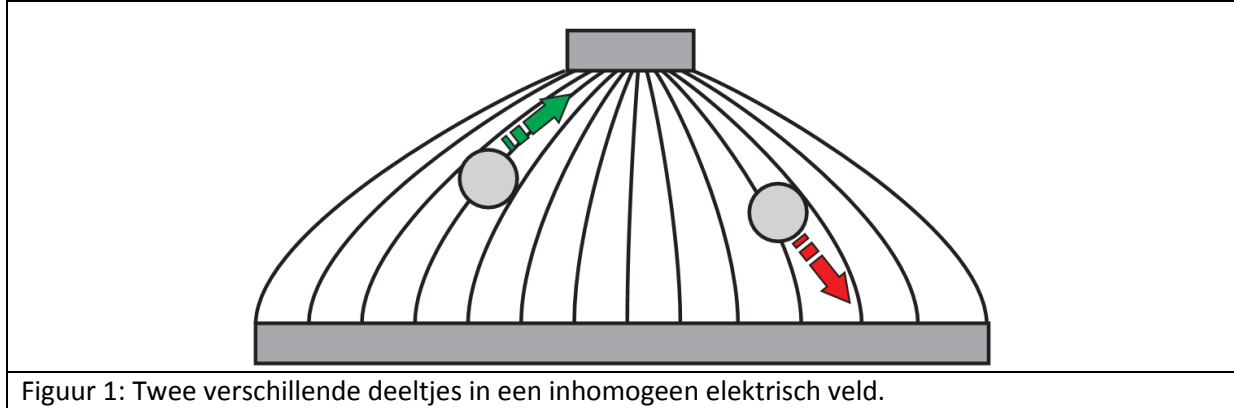
Wanneer nu een deeltje in een medium zit, en daar een elektrisch veld overheen komt, treedt er wisselwerking op. Het deeltje zal kracht ondervinden van het elektrische veld, en van de afstotende kracht van de ionen.

	<p>Als het polariseren het deeltje makkelijker gaat dan het polariseren van het medium is er sprake van positieve diëlektroforese: het deeltje zal naar het punt gaan waar de veldlijnen het dichtst bij elkaar liggen. Het elektrische veld zorgt voor de aantrekkende kracht die groter is dan de afstotende kracht van de ionen.</p>
---	---



Gaat het polariseren van het deeltje moeilijker dan het polariseren van het medium dan is er sprake van negatieve diëlektroforese: het deeltje zal naar het punt met de minste veldlijndichtheid geduwd worden. Hier zorgen de geladen ionen van het medium dat het deeltje een afstotende kracht ervaart. Het elektrische veld levert een kleinere kracht; de kracht door de ionen is sterker.

Hieronder zie je positieve diëlektroforese (links) en negatieve diëlektroforese (rechts), weergegeven met veldlijnen.



Figuur 1: Twee verschillende deeltjes in een inhomogeen elektrisch veld.

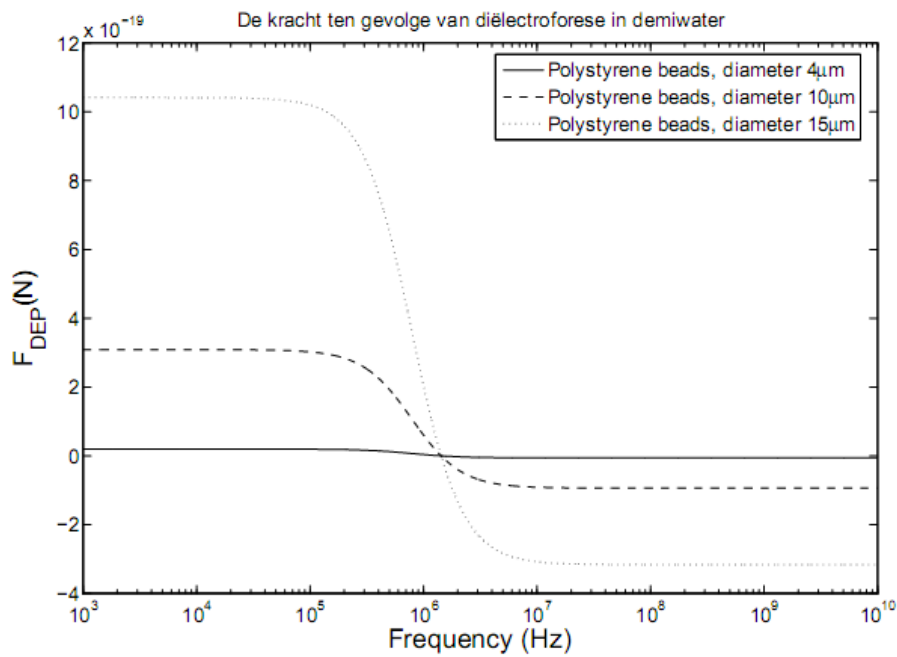
De grootte van de kracht ten gevolge van diëlektroforese op een rond deeltje wordt gegeven door de volgende formule:

$$\langle F_{DEF} \rangle = 2\pi r^3 \epsilon_m \Re \left\{ \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \right\} \Delta \left| \vec{E}_{rms} \right|^2$$

Dit is een moeilijke formule, maar er zijn variabelen uit te halen die bekend zijn:

- $\pi r^3 \rightarrow$ de kracht hangt van het volume van het deeltje af; een twee keer zo grote diameter levert een 8 keer (2^3) zo grote kracht. Grotere deeltjes worden dus veel harder aangetrokken dan kleinere deeltjes
- $\epsilon_m \rightarrow$ de kracht hangt van de relatieve permittiviteit van het medium af: De relatieve permittiviteit wordt bepaald door het vermogen van een materiaal om te polariseren door een elektrisch veld.
- $\Delta E_{rms}^2 \rightarrow$ De kracht hangt van de dichtheid van de veldlijnen af. In Figuur 1 zie je dat beter; bovenaan liggen de veldlijnen dichter bij elkaar dan onderaan. Dit hangt tevens van de sterkte van het veld af. De sterkte van het veld wordt bepaald door de afstand tussen elektrodes en de amplitude van de spanning die aangebracht wordt.

Het deel tussen de accolades is de Clausius Mosotti-functie. Deze bepaalt hoe frequentie-afhankelijk de kracht is. Hieronder zie je dat voor bolletjes van polystyreen in demiwater de diëlectroforese kracht positief is voor frequenties beneden de 1MHz. Voor frequenties groter dan 1MHz is de kracht negatief.



Opdracht 2: Worden de bolletjes naar de hoogste dichtheid veldlijnen toegetrokken, of daarvan afgeduwd voor frequenties lager dan 1MHz?

Dimensies chip

De chip waar je mee gaat werken is klein. In dit deel gaan we bekijken hoe klein.

[plaatje nieuwe chip]

Het kanaal in de chip is 4cm lang, 20 μ m hoog en 100 μ m breed.

Opdracht 3: Wat is het volume dan in het kanaal van deze chip kan?

Er wordt een kleine spuit gebruikt met een diameter van 1cm om de chip te vullen.

Opdracht 4: Hoever moet de spuit ingeduwd worden om het kanaal te vullen als de slang al vol zit?



Tenslotte worden er bolletjes toegevoegd aan de vloeistof. Deze deeltjes zijn 10 μ m en 15 μ m groot. Deze zijn nog goed te zien wanneer ze met een snelheid van 1mm/s door het kanaal stromen.

Opdracht 5: Hoe lang doen de beads over het gehele kanaal?

Opdracht 6: Hoeveel keer groter is de diëlektroforese kracht op het 15 μ m bolletje ten opzichte van een 10 μ m bolletje?

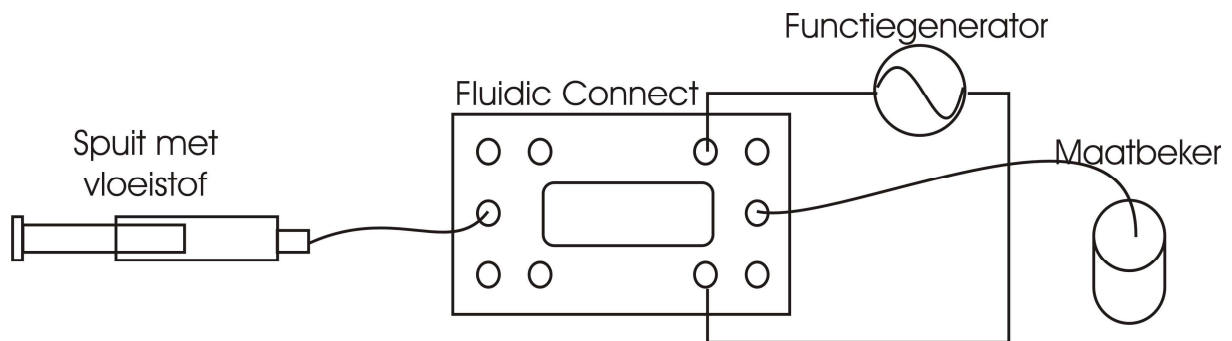
Practicum

Handleiding Fluidic Connect

[Hier moet een stap voor stap handleiding komen met duidelijke foto's]

Practicum

Hieronder zie je de opstelling zoals die nu voor je moet liggen:



Je bent nu klaar om aan het practicum te beginnen. Zorg dat je onder de microscoop de linker elektrodes kan zien. [foto functie 1]

Zorg ervoor dat je de beads ziet stromen. Laat ze niet te hard stromen omdat dan het bekijken lastig wordt.

Voer langzaam de amplitude van de functiegenerator op tot je ziet dat de beads reageren op de spanning.

Schrijf deze amplitude op.

Is er een verschil in reactie tussen de grote en kleine beads?

Voer de amplitude op totdat beide groottes beads reageren op de spanning.

Schrijf deze amplitude ook op.

Verwisselen elektrodes

Om naar het volgende practicumonderdeel op de chip te gaan moeten de elektrodes verplaatst worden.

[weer stap voor stap handleiding met verwisselen elektrodes]

Scheiden

We gaan nu bekijken hoe diëlektroforese nuttig gebruikt kan worden. Zorg dat je onder de microscoop de rechter functie goed kan zien [foto functie 2].

Stel de spanning in op de spanning waarbij de kleine beads wel reageerden maar de grotere minder.

Wat gebeurt er nu?

Stel de spanning nu zo in dat beide beads reageren.

Wat is nu het verschil met de lagere spanning?

In de biologie worden er cellen mee uit bloed gescheiden.

Welke cellen zouden dit zijn en waarom?

Wat zijn voordelen en nadelen aan deze manier van scheiden ten opzichte van bijvoorbeeld centrifugeren?

Bedenk nog een andere toepassing voor deze techniek.

Antwoordblad opdrachten

Opdracht 1: Som de hierboven genoemde voordelen puntsgewijs op en verzin zelf nog een voordeel.

- Tijdbesparend
- Volumes zijn kleiner
- Geen laboratorium nodig

Opdracht 2: Worden de bolletjes naar de hoogste dichtheid veldlijnen toegetrokken, of daarvan afgeduwd voor frequenties lager dan 1MHz?

Er naar toegetrokken; de kracht is positief, dus is er positieve diëlectroforese. Dan worden de deeltjes naar de sterkste gradient toegetrokken.

Opdracht 3: Wat is het volume dan in het kanaal van deze chip kan?

$$4 \cdot 10^{-2} \cdot 20 \cdot 10^{-6} \cdot 100 \cdot 10^{-6} = 8 \cdot 10^{-11} \text{ m}^3 = 8 \cdot 10^{-8} \text{ L} = 80 \text{ nl}$$

Opdracht 4: Hoever moet de spuit ingeduwd worden om het kanaal te vullen?

$$8 \cdot 10^{-11} / ((1/2 \cdot 0,01)^3 \cdot \pi) = 1,0 \mu\text{m}$$

Opdracht 5: Hoe lang doen de beads over het gehele kanaal?

De beads stromen met 1mm/s, dus over het gehele kanaal doen ze $40/1 = 40$ s.

Opdracht 6: Hoeveel keer groter is de diëlektroforese kracht op het 15 μm bolletje ten opzichte van een 10 μm bolletje?

$$15^2/10^2 = 2,25 \text{ keer}$$

Practicum

Je bent nu klaar om aan het practicum te beginnen. Zorg dat je onder de microscoop de linker elektrodes kan zien. [plaatje functie 1]

Zorg ervoor dat je de beads ziet stromen. Laat ze niet te hard stromen omdat dan het bekijken lastig wordt.

Voer langzaam de amplitude op tot je ziet dat de beads reageren op de spanning. Schrijf deze amplitude op. Is er een verschil in reactie tussen de grote en kleine beads?

De grote beads worden sterker aangetrokken dan de kleine beads. Dit zou moeten zijn bij een amplitude van ???V (testen)

Voer de amplitude op totdat beide groottes beads reageren op de spanning. Schrijf deze amplitude ook op. **Dit zou een amplitude moeten zijn groter dan...V**

Verwisselen elektrodes

Om naar het volgende practicumonderdeel op de chip te gaan moeten de elektrodes verplaatst worden.

- Haal de elektrische snoertjes los van de elektrodes
- Schroef de elektrodes los.
- Schroef ze in gaten ?? en ??.
- Sluit nu de snoertjes weer aan op de elektrodes.

Scheiden

We gaan nu bekijken hoe diëlektroforese nuttig gebruikt kan worden. Zorg dat je onder de microscoop de rechter functie goed kan zien [plaatje functie 2].

Stel de spanning in op de spanning waarbij de kleine beads wel reageerden maar de grotere minder. Wat gebeurt er nu?

De grote beads gaan naar het zijkanaal, de kleine beads rechtdoor

Stel de spanning nu zo in dat beide beads reageren. Wat is nu het verschil met de lagere spanning?

Alle beads gaan naar het zijkanaal

In de biologie worden er cellen mee uit bloed gescheiden. Welke cellen zouden dit zijn en waarom?

Wat zijn voordelen en nadelen aan deze manier van scheiden ten opzichte van bijvoorbeeld centrifugeren?

De rode bloedcellen; deze zijn het grootst. Voordeel is dat het onder de microscoop bekeken kan worden en alleen rode bloedcellen gefilterd worden terwijl alles zinkt bij centrifugeren.

Tips voor de TOA

De meest voorkomende oorzaken voor het niet werken van de chip;

Er stroomt niets in de chip:

- De tube zit niet goed op de chip en de vloeistof komt op de chip te liggen in plaats van erin.
 - Wanneer de tube in de houder gedraaid is kan het na vingervast aandraaien nog $\frac{1}{4}$ rondje bijgedraaid worden met de aandraai-tool.
- De buisjes zijn verstopt.
 - Sluit de spuit aan en spoel de buisjes even door met demiwater. Het zou er als straal uit moeten komen wanneer er op de spuit geduwd wordt.
- De chip is verstopt
 - Bekijk de chip onder de microscoop zonder houder. Wanneer de ingangen verstopt zijn, de in en uitgang-gaten even uitspuiten met demiwater.

Er is geen reactie op de aangebrachte spanning

- Controleer of de elektrodes in de juiste gaten zit
- Controleer of de snoertjes goed op de elektrodes zitten (er mag geen metaal van de elektrodes meer zichtbaar zijn)
- Controleer de bananastekkers in de toongenerator
- Controleer de toongenerator op een oscilloscoop